



TITLE:

DESIGN AND CHARACTERIZATION OF  
GELATIN HYDROGELS INCORPORATING  
LOW-MOLECULAR-WEIGHT DRUGS FOR  
TISSUE REGENERATION( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Saito, Takashi

---

CITATION:

Saito, Takashi. DESIGN AND CHARACTERIZATION OF GELATIN HYDROGELS  
INCORPORATING LOW-MOLECULAR-WEIGHT DRUGS FOR TISSUE REGENERATION. 京都大  
学, 2015, 博士(工学)

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19010>

RIGHT:

京都大学	博士（工学）	氏名	齊 藤 高 志
論文題目	DESIGN AND CHARACTERIZATION OF GELATIN HYDROGELS INCORPORATING LOW-MOLECULAR-WEIGHT DRUGS FOR TISSUE REGENERATION (組織再生のための低分子薬物含有ゼラチンハイドロゲルの創製と評価)		
(論文内容の要旨)			
<p>本論文は、低分子薬物徐放化ゼラチンハイドロゲルを、ゼラチン誘導体を用いてデザイン、創製し、得られたゼラチンハイドロゲルの物理化学的および生物学的性質、ハイドロゲルから徐放された低分子薬物の治療効果について調べ、その研究成果をまとめたものであり、2部5章からなっている。</p> <p>第1部では、水可溶性の低分子薬物を内包したゼラチンハイドロゲルを創製した。ゼラチンハイドロゲルから薬物の徐放挙動を調べている。次に、病態モデル動物を用いて、ゼラチンハイドロゲルから徐放された薬物の生物活性を評価している。</p> <p>第1章では、ゼラチンハイドロゲルから徐放されたデフェロキサミン (DFO) の低酸素誘導性血管新生について評価している。ゼラチンハイドロゲルからの DFO の徐放挙動、およびゼラチンハイドロゲルの分解挙動を調べた。次に、下肢虚血モデルマウス筋肉内に DFO 内包ゼラチンハイドロゲルを移植した後の血管新生効果を評価した。遊離 DFO 投与と比較したところ、DFO 内包ゼラチンハイドロゲルは血管新生を有意に促進させることを示している。</p> <p>第2章では、small interfering RNA (siRNA) とカチオン化ゼラチン (CG) コンプレックスを内包したゼラチンハイドロゲルによる siRNA 活性について評価している。CG はゼラチンをエチレンジアミンで化学修飾することによって得た。この CG と siRNA を水溶液中で混合することでポリイオンコンプレックスを形成させた。そのコンプレックスを水溶液状態でゼラチンと混合した後、グルタルアルデヒドを用いて化学架橋し、凍結乾燥することで siRNA/CG コンプレックス内包ゼラチンハイドロゲルを作製した。ゼラチンハイドロゲルからの siRNA の徐放挙動と in vitro 細胞培養実験での siRNA の生物活性を評価した。その結果、生物活性をもつ siRNA が徐放されることを示している。</p> <p>第3章では、低分子量ヘパリン (LMWH) の徐放のためのゼラチンハイドロゲルについて評価した。CG と LMWH を水溶液中で混合することでコンプレックスを形成させた。得られたコンプレックスとゼラチンを水溶液状態で混合した後、凍結乾燥した。その後、熱脱水処理によって CG/LMWH コンプレックスを内包したゼラチンハイドロゲルを作製した。ハイドロゲルからの LMWH の徐放挙動とハイドロゲルの分解挙動を評価した。また、腹膜線維化モデルマウスを用いて LMWH の生物活性を調べた。その結果、遊離 LMWH に比べて、CG/LMWH コンプレックス内包ゼラチンハイドロゲルは、有意に高い抗線維化効果を示していた。</p> <p>第2部では、難水溶性低分子薬物を内包したゼラチンハイドロゲルを創製した。ゼラチンに L-乳酸オリゴマーをグラフトすることで、両親媒性高分子の1つである L-乳酸オリゴマーグラフトゼラチン (LA-Gelatin) を調製した。難水溶性低分子薬物を LA-Gelatin ミセルによって水可溶化した。水可溶化低分子薬物を均一に内包されたゼラチンハイドロゲルを作製した。ゼラチンハイドロゲルから徐放された薬物の生物活性評価を in vitro 細胞培養実験や in vivo 病態モデルマウスを用いて評価している。</p> <p>第4章では、難水溶性スフィンゴシン-1-リン酸 I 型受容体アゴニスト (SEW2871) の</p>			

京都大学	博士（工学）	氏名	齊 藤 高 志
<p>徐放のためのゼラチンハイドロゲルについて評価した。SEW2871 (SEW) を LA-Gelatin ミセルによって水可溶化した。SEW ミセルとゼラチンを水溶液状態で混合し、凍結乾燥した。その後、熱脱水処理することで SEW ミセルを内包したゼラチンハイドロゲルを作製した。in vitro および in vivo において、SEW ミセル内包ゼラチンハイドロゲルの SEW の徐放を確認した。水可溶化 SEW は、in vitro において、マクロファージの遊走活性を示した。SEW ミセル内包ゼラチンハイドロゲルをマウスの背部皮下または皮膚欠陥部に移植した。その結果、遊離 SEW 内包ハイドロゲルと比べて有意に、移植部位周辺のマクロファージの遊走が促進されることを示している。</p> <p>第 5 章では、デキサメタゾン (Dex) と活性型ビタミン D<sub>3</sub> (1,25-D<sub>3</sub>) の徐放のためのゼラチンスポンジを作製した。LA-ゼラチンミセルを用いて Dex と 1,25-D<sub>3</sub> を水可溶化した。Dex と 1,25-D<sub>3</sub> ミセルをともに内包したゼラチンハイドロゲルの 3 次元スポンジ足場を作製した。攪拌播種法によりヒト間葉系幹細胞 (hMSC) をスポンジ内に播種した。Dex および 1,25-D<sub>3</sub> を添加した骨分化培地中で培養したところ、hMSC のアルカリホスファターゼ (ALP) 活性のレベルとカルシウム (Ca) 沈着量が、1,25-D<sub>3</sub> 不含骨分化培地中での培養と比較して、有意に増加した。また、Dex と 1,25-D<sub>3</sub> ミセル内包ゼラチンスポンジは、他のスポンジの中で最も高い Ca 沈着量となることを示している。</p> <p>以上のことから、低分子薬物徐放システムが組織再生のために有用であり、かつ必要であることが明らかとなった。薬物徐放システムは、生体組織の再生修復を実現するための 1 つの Key 技術であるといえる。</p>			

## (論文審査の結果の要旨)

本論文は、様々な水溶性および難水溶性低分子薬物が、ゼラチンハイドロゲルの酵素分解とともに徐放されるハイドロゲルの創製を、ゼラチンとその誘導体を用いて行い、徐放された薬物の活性を評価している。得られた主な成果は次のとおりである。

- 1) デフェロキサミン (DFO) が徐放可能なゼラチンハイドロゲルを創製し、ゼラチンハイドロゲルから徐放された DFO は低酸素誘導性血管新生を遊離 DFO と比べ有意に促進させた。
- 2) small interfering RNA (siRNA) が徐放可能なゼラチンハイドロゲルを、カチオン化ゼラチンを用いて創製し、ゼラチンハイドロゲルから徐放された siRNA は活性を保持していた。
- 3) 低分子量ヘパリン (LMWH) が徐放可能なゼラチンハイドロゲルを、カチオン化ゼラチンを用いて創製し、ゼラチンハイドロゲルから徐放された LMWH は抗腹膜線維化効果を局所で促進させた。
- 4) スフィンゴシン-1-リン酸 I 型受容体アゴニスト (SEW2871) が徐放可能なゼラチンハイドロゲルを、乳酸オリゴマーグラフトゼラチンを用いて創製し、ゼラチンハイドロゲルから徐放された SEW2871 は皮膚欠損部へのマクロファージ遊走能を示した。
- 5) デキサメタゾン (Dex) と活性型ビタミン D<sub>3</sub> (1,25-D<sub>3</sub>) が徐放可能なゼラチンスポンジを、乳酸オリゴマーグラフトゼラチンを用いて創製し、ゼラチンスポンジから徐放された Dex と 1,25-D<sub>3</sub> は間葉系幹細胞の骨分化をスポンジ内部で促進させた。

以上、本論文は、低分子量薬物徐放化ゼラチンハイドロゲルの創製および徐放された薬物の活性に関して重要な基礎的知見を得たものであり、学術上、實際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士(工学)の学術論文として価値があるものと認める。また、平成 27 年 2 月 20 日、論文内容とそれに関連した事項についての試問を行った結果、合格と認めた。